

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kromatografi adalah teknik pemisahan fisik suatu campuran zat-zat kimia (analit) berdasarkan perbedaan distribusi masing-masing komponen campuran yang terpisah pada fase diam (*stationary phase*) dibawah pengaruh fase gerak (*mobile phase*). Salah satu jenis kromatografi yang banyak digunakan pada saat ini yaitu menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) ¹. Metode KCKT merupakan teknik yang direkomendasikan karena dapat digunakan untuk pemisahan, identifikasi, dan kuantifikasi analit dari ekstrak tumbuhan, makanan, produk farmasi dan cairan tubuh². Untuk menjamin bahwa metode yang digunakan memberikan hasil pengukuran yang baik, maka harus dilakukan validasi metode terlebih dahulu. Validasi metode dilakukan dengan menilai beberapa parameter yaitu penentuan linearitas, *Limit of Detection* (LoD), *Limit of Quantitation* (LoQ), presisi, dan persen perolehan kembali ³.

Tuszynska melaporkan validasi metode dengan metode KCKT untuk menentukan flavonoid pada brokoli dengan kondisi kromatografi pada kolom C-18 fase terbalik, fase gerak metanol:air (60:40) dan asam posfat 0,2%, laju alir 1 mL/min, deteksi dengan detektor DAD pada 370 nm. Didapatkan metode selektif untuk kuersetin dan kaempferol terpisah dengan baik dalam brokoli dengan resolusi bagus ⁴. Tapan Seal melaporkan validasi metode dengan metode KCKT untuk menentukan flavonoid, asam fenolik dan asam askorbat pada *Sonchus arvensis* dan *Oenanthel linearis* dengan analisis KCKT Diolex Ultimate, kondisi kromatografi pada kolom C-18, fase gerak asetronitril dan asam asetat 1% dengan elusi gradien, laju alir 0,7 mL/min, deteksi dengan detektor DAD pada 272, 280 dan 310 nm. Didapatkan metode selektif terpisah masing-masing senyawa dengan baik ⁵.

Namun sejauh ini belum ada penelitian yang melaporkan validasi metode KCKT untuk menentukan kuersetin dengan alat KCKT Agilent 1260 di Laboratorium Pengukuran Jurusan Kimia Universitas Andalas. Oleh karena itu peneliti ingin melakukan validasi metode KCKT untuk menentukan kuersetin. Analisis dengan KCKT Agilent 1260 kondisi kromatografi dilakukan pada fase gerak asetronitril dan asam asetat 1% (10:90) dengan elusi isokratik, laju alir 0,7 mL/min, volume injeksi

20 μL , deteksi dengan detektor DAD pada 272, 280 dan 310 nm, pemisahan dengan fase terbalik menggunakan fase diamnya kolom C-18.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka diperoleh perumusan masalah:

1. Apakah metode KCKT valid digunakan untuk penentuan kuersetin ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk:

1. Menentukan validasi metode KCKT dengan parameter nilai linearitas, *Limit of Detection* (LoD), *Limit of Quantitation* (LoQ), presisi, dan persen perolehan kembali (% *recovery*)

1.4 Manfaat Penelitian

Memperoleh hasil yang valid dari berbagai parameter validasi metode yang dikerjakan.

